

Két autofágia aktiváló kismolekula, az AUTEN-67 és az AUTEN-99 hatásának vizsgálata *Drosophila melanogaster* Huntington-kór modellben

Doktori értekezés tézisei

Billes Viktor András

Biológia Doktori Iskola, iskolavezető: Prof. Erdei Anna

Klasszikus és Molekuláris Genetika Doktori Program, Programvezető: Prof. Vellai Tibor

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar



Témavezető: Prof. Vellai Tibor

Készült:

Eötvös Loránd Tudományegyetem, Természettudományi Kar

Genetikai Tanszék

Budapest, 2017

Irodalmi áttekintés

Az autofágia minden eukarióta sejtre jellemző konzervált, lizoszóma-közvetített önmegsejtő folyamat. Legjelentősebb típusa a makroautofágia, amely során egy kettős izoláló membrán képződik, amely elkülöníti és magába zárja a lebontásra kijelölt citoplazma részletet, létrehozva az autofagszómát. Az autofagoszóma ezt követően lizoszómával (vagy még egy ezt megelőző lépésben kései endoszómával) fuzionál. Az így létrejött struktúra az autolizoszóma, amelyben a lizoszomális enzimek lebontják a beltartalmat (Feng és mtsai., 2014). A továbbiakban az autofágia kifejezés alatt makroautofágiát értek. Az autofágiáért felelős fehérjék komplexekbe szerveződve hatnak, és az őket kódoló gének konzerváltak élesztőtől az emberig (Meijer és mtsai., 2007). Az autofágia különböző hatásokra képes indukálódni. A legismertebb ilyen faktor az éhezési stressz, amely során az autofágia hozzájárul a sejt és végső soron az élőlény túléléséhez azáltal, hogy a lebontás révén energiát és építőköveket biztosít a sejt számára (Rabinowitz és White, 2010; Mizushima és Komatsu, 2011). Az alapszintű autofágia elsősorban a hosszú életidejű, rosszul feltekeredett fehérjék, valamint a károsodott vagy feleslegessé vált sejtalkotók lebontásáért felelős (Anding és Baehrecke, 2017). A szelektív autofágia során kulcsszerepe van az autofág receptoroknak, melyek molekuláris kapcsolatot teremtenek a lebontandó struktúrák és az autofág membrán között (Johansen és Lamark, 2011). Az autofág receptorok közül a legáltalánosabb a p62 (vagy emberben SQSTM1 - Sequestosome-1, *Drosophila*-ban Ref(2)P), amely az autofág folyamat során maga is lebomlik, így széleskörűen használt marker az autofág lebontás vizsgálatára (Shvets és mtsai., 2008; Nagy és mtsai., 2014). Az autofágia bazális aktivitása különösen fontos a már nem osztódó, terminális differenciálódott sejtekben, köztük a neuronokban (Menzies és mtsai., 2017). Az autofágia hibás működése számos betegséghez képes vezetni, az idegsejtekben a működésének a zavara különböző neurodegeneratív betegségek kialakulásához járulhat hozzá, mint amilyen az Alzheimer-, a Parkinson- vagy a Huntington-kór (Mizushima és mtsai., 2008; Nixon, 2013). Éppen ezért az autofágia terápiás célpont ezen betegségek kezelésében (Martinez-Vicente, 2015; Towers és Thorburn, 2016).

A Huntington-kór (*Huntington's Disease*, HD) egy domináns, komplex motoros-, kognitív és pszichiátriai tünetekkel járó, halálos kimenetelű betegség. Oka a *Huntingtin* (HTT) génben lévő poliglutamin (polyQ) szakaszt kódoló CAG ismétlődések abnormális mértékű expansziója. Amennyiben a számuk meghaladja a 39-et, biztosan kialakul a betegség (Rüb és mtsai., 2016). A vad típusú HTT fehérje nagyon sokrétű funkcióval rendelkezik, részt vesz számos vezikula szállításában, a csillóképződésben, a transzkripció szabályozásában, és több ponton

is hatva elősegíti a szelektív autofág lebontást (Saudou és Humbert 2016). A mutáns HTT fehérje több sejten belüli funkció károsodásához vezet, de a szelektív autofágia képes lebontani (Sarkar és Rubinsztein, 2008; Saudou és Humbert, 2016). Számos autofág aktivitást fokozó genetikai megközelítés és farmakológiai ágens neuroprotektívnek bizonyult a különböző HD modellekben (Sarkar és mtsai., 2009; Martinez-Vicente, 2015). E megközelítések célpontja azonban részben az autofágia legfőbb negatív szabályozója, az mTORC1, vagy a sejt energiaszenzor kináza, az AMPK, amelyek működésének befolyásolásával nem csak az autofágiára hatunk, hanem sok más sejtbiológiai folyamatra is (Laplane és Sabatini, 2009; Hardie, 2014; Martinez-Vicente, 2015). Ugyanez mondható el azokról az autofágia aktiváló molekulákról, amelyek bár az mTORC1-től és az AMPK-től függetlenül hatnak, de jóval távolabb az autofágiától (Williams és mtsai., 2008; Sarkar és mtsai., 2009). Mindezek miatt mindenképpen szükséges olyan új autofágia fokozó molekulák azonosítása és vizsgálata, amelyek közvetlenül hatnak az autofágiára.

Az autofágia iniciációjának egyik kulcslépése, a foszfatidilinozitol (PI) foszfatidilinozitol 3-foszfáttá (PI3P) történő átalakulása, amelyet a Vps34 kináz komplex katalizál (Feng és mtsai., 2014). Az ellenkező irányú reakció katalizálására, azaz a PI3P defoszforilálására a myotubularin családba tartozó foszfatazok képesek (Robinson és Dixon, 2006). E lipidfoszfataz családba gerincesekben 16 családtag tartozik, amelyek a PI3P és egy másik lipidszignalizációs molekula, a PI3,5P₂ defoszforilálásával több jelátviteli és sejtbiológia útvonalban képesek hatni (Alonso és mtsai., 2004; Robinson és Dixon, 2006; Hnia és mtsai., 2012). Az MTMR14 (Myotubularin related 14, Jumpy vagy MIP néven is ismert) az izoláló membrán PI3P készletén hatva működik, míg a sejtben másik legjelentősebb PI3P készleten, a korai endoszómán feltehetően nem hat a Vps34 komplex több tagjával ellentétben (Vergne és mtsai., 2009). MTMR14-gátló kismolekulákat keresve sikerült azonosítanunk két autofágia indukáló molekulát, az AUTEN-67-t (*autophagy enhancer-67*) és az AUTEN-99-t (Papp és mtsai., 2016; Kovács és mtsai., 2017). E két kismolekula autofágiára gyakorolt hatásának vizsgálatát különböző sejtmodelleken, illetve egér és ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) modellorganizmusokban végeztük el (lásd Kovács Tibor és Liliom Hanna doktori értekezéseit). Az AUTEN-67 és az AUTEN-99 gátolja az MTMR14 foszfataz aktivitását *in vitro*, és fokozza az autofág aktivitást a vizsgált sejt és *in vivo* modellekben egyaránt, így alkalmasnak tűntek arra, hogy *Drosophila* neurodegeneratív betegségmodellekben, köztük HD modellben is megvizsgáljuk a hatásukat. Az ecetmuslica egy közkedvelt genetikai modelllélőlény, melynek kutatása több mint száz éves múltra tekint vissza. Gazdag genetikai eszköztár és törzsgyűjtemény került már kifejlesztésre, illetve létrehozásra már a kutatásához (Duffy, 2002; Venken

és Bellen, 2014). A *Drosophila*-ban és az emlősökben leírt autofágia nagyfokú hasonlóságot, konzerváltságot mutat, és a *Drosophila* az autofágia-alapú vizsgálatokra is kiválóan alkalmas (Mulakkal és mtsai., 2014; Nagy és mtsai., 2014). Széleskörűen használják a különböző neurodegeneratív betegségek modellezéséhez is. A *Drosophila* HD modell rekapitulálja a Huntington-kór patológiai tulajdonságainak jelentős részét, ráadásul a patológiához hozzájáruló egyes mechanizmusok jobb megismerését és konkrét gyógyszerjelölt molekulák vizsgálatát is lehetővé teszi (Xu és mtsai., 2015). A doktori értekezésemben bemutatott munkában az AUTEN-67 és az AUTEN-99 hatását vizsgáltam *Drosophila* HD modellben.

Célkitűzés

Célunk az MTMR14 gátló AUTEN-67 és AUTEN-99 autofágiát fokozó kismolekulák hatásának vizsgálata volt *Drosophila melanogaster* Huntington-kór modellben.

I. Legelőször annak a tesztelését kívántuk elvégezni, hogy a táplálékkal felvett gyógyszerjelölt molekulák képesek-e a felnőtt állatok agyában is fokozni az autofágiát (hasonlóan ahhoz, ahogyan az a lárvális zsírtestben történik).

II. Pozitív eredmény esetén célunk volt a gyógyszerjelölt molekulák 1) autofágiára gyakorolt hatásának elemzése az autofág receptor p62/Ref(2)P és az ubikvitinált fehérjék vizsgálatával, 2) a motoros funkciókra gyakorolt hatásának vizsgálata (mászó- és repülési képesség tesztelése), 3) a mutáns HTT mennyiségére kifejtett hatásának vizsgálata, 4) és az élettartamra gyakorolt hatásának vizsgálata a nem patogén 16Q-HTT-t kifejező, illetve a patogén 128Q-HTT-t kifejező HD modellállatokban.

Anyagok és módszerek

A használt törzsek és a fenntartásuk

Hagyományos, kukoricaliszt-cukor-élesztő-agar tartalmú táptalajt használtunk a munkánk során. A kísérletekhez az állatokat 29°C-on tartottuk. A Bloomingtoni Törzsközpontból (BDSC) származó HD modell törzs (BL33808) genotípusa *UAS-128Q-HTT*, míg a nem patogén kontroll törzs (BL33810) genotípusa *UAS-16Q-HTT/CyO* volt. Mindkét transzgén expresszióját a pánneurális *Appl-Gal4* által (BL32040) vezéreltük.

A gyógyszerjelölt molekulákkal való kezelés

A felnőtt állatokat élesztőszuszpenzióhoz hozzáadott, DMSO-ban oldott AUTEN-67-tel, illetve AUTEN-99-cel kezeltük oly módon, hogy a hatóanyag-koncentráció a végtérfogatra számítva a kívánt mértékű (pl. 50, 100 vagy 200 μ M-os) legyen. Kontrollként mindig az adott AUTEN kezeléshez alkalmazott DMSO-val megegyező térfogatú DMSO-t kevertünk az élesztőszuszpenzióba. 65-65 μ l-t tettünk az üvegcsövekben levő táptalaj felszínére, azt két napig ették az állatok, majd új csövekbe kerültek, minden kísérlet során.

Mászóképesség vizsgálata és átlagsebesség meghatározása

- 1) Egy keskeny üvegcsőbe 20 nőtényt helyeztünk, és megvizsgáltuk hány állat mászik fel 21,8 cm magasra 20, 40 és 60 mp-n belül azt követően, hogy leütöttük őket a cső aljára (erre az állatok negatív geotaxissal válaszolnak).
- 2) 10-10 állatot helyeztünk üvegcsövekbe, és megvizsgáltuk, hogy 5 cm magasra hány állat mászik fel 10 és 20 mp-n belül azt követően, hogy leütöttük őket a cső aljára. Videófelvétel alapján meghatároztuk az állatok átlagsebességét is.

Mindkét esetben 3-6 párhuzamossal dolgoztunk és háromszor ismételtük meg a vizsgálatokat, 7, 14, illetve 21 napos állatokkal dolgozva.

Élethossz mérés

20-30 nőtény állat élettartamát vizsgáltuk csövenként, 5-11 párhuzamost használva. Naponta feljegyeztük az elpusztult állatok számát.

Western blot és immunhisztokémiai vizsgálatok

Az egyes fehérjék - Ref(2)P/p62, ubikvitin, mutáns HTT - mennyiségének és lokalizációjának vizsgálatára immunjelölésen alapuló technikákat alkalmaztunk. Az oldott/oldható (szolúbilis) fehérjék kimutatását western blot, az oldhatatlan aggregátumok kimutatását immunhisztokémia segítségével valósítottuk meg.

Mikroszkópia

Szemikonfokális fluoreszcens felvételeket készítettünk Zeiss Axioimager Z1 *upright* mikroszkóppal szemikonfokális ApoTome feltétet és az AxioVision 4.82 programot használva.

Mennyiségi kiértékelés és statisztikai elemzés

A mikroszkópos felvételek és a western blot képek kvantitatív kiértékeléséhez AxioVision 4.82 és/vagy az ImageJ 1.45s szoftvereket használtuk. A statisztikai elemzésekhez a MatLab 7.12.0.635 (R2011a), az RStudio 0.98.1102 vagy az SPSS 17.0 programot használtuk.

Eredmények, a doktori értekezés tézisei

1. Az AUTEN-67 (50 μ M) és az AUTEN-99 (100 μ M) kismolekula képes a táplálékhoz hozzáadva az mCherry-Atg8a-pozitív pontszerű autofág struktúrák mennyiségét fokozni.
2. Az AUTEN-67 (50 μ M) és az AUTEN-99 (100 μ M) kismolekula nem növeli meg a célba ért 16Q-HTT-t vagy 128Q-HTT-t kifejező állatok arányát a mászókéesség vizsgálatokban egyik vizsgált életkor és kísérleti beállítás esetében sem. Az AUTEN-67 (50 μ M) kezelés azonban növeli az állatok átlagsebességét 7 napos felnőtt korban.
3. Az AUTEN-67 (100 μ M) javítja a 128Q-HTT-t kifejező HD modellállatok mászókéességét: megnöveli a 20 és 40 mp alatt célba ért állatok arányát 7 és 14 napos korban, míg a 16Q-HTT-t expresszáló kontroll állatok mászókéességét nem befolyásolja.
4. Az AUTEN-99 (200 μ M) javítja a 128Q-HTT-t kifejező HD modellállatok mászókéességét: növeli a 20 mp alatt célba ért állatok arányát 14 napos korban, míg a 16Q-HTT-t expresszáló állatokét nem befolyásolja egyik vizsgált időpontban sem.
5. Az AUTEN-67 (100 μ M) javítja a 128Q-HTT-t kifejező HD modell állatok repülőkéességét 14 napos korban, míg a 16Q-HTT-t expresszáló kontroll állatokét nem befolyásolja.
6. Az AUTEN-67 (100 μ M) és feltehetően az AUTEN-99 (200 μ M) csökkenti a Ref(2)P/p62 fehérje és az ubikvitinált fehérjék mennyiségét 21 napos korban 16Q-HTT-t és 128Q-HTT-t kifejező állatokban egyaránt, ami az autofág aktivitás fokozására utal.
7. Az AUTEN-99 (200 μ M) gátolja a Ref(2)P/p62 életkor-függő akkumulációját 128Q-HTT-t kifejező modellállatokban.
8. Az oldott Ref(2)P/p62 fehérjeszint és az ubikvitinált fehérjék szintje alacsonyabb a 128Q-HTT-t kifejező állatokban, mint a 16Q-HTT-t expresszáló kontroll állatokban, aminek az oka az, hogy a 128Q-HTT jelenléte esetén nagy fehérjeaggregátumokba, zárványokba csapdázódnak ezek a fehérjék a mutáns HTT-vel együtt.

9. Az AUTEN-67 (100 μ M) csökkenti az oldhatatlan fehérjezárványok és mutáns HTT fehérje mennyiségét 128Q-HTT-t kifejező HD modellállatok agyában.

10. Az AUTEN-67 (100 μ M) és az AUTEN-99 (200 μ M) csökkenti a toxikus oldott mutáns HTT fehérje mennyiségét.

11. Az AUTEN-67 (100 μ M) és az AUTEN-99 (200 μ M) növeli a 16Q-HTT-t kifejező állatok élettartamát.

12. Az AUTEN-67 (100 μ M) növeli a 128Q-HTT-t kifejező HD modellállatok élettartamát, míg az AUTEN-99 (200 μ M) nincsen rá hatással.

Megvitatás

A sejtes lebontó folyamatok - az autofágia és az ubikvitin-proteaszóma rendszer - a károsodott fehérjék és sejtalkotók lebontása révén igen jelentősek a sejt homeosztázisának fenntartásában, és különösen fontosak a nem osztódó, terminálisan differenciálódott sejtek esetében, amelyekben a károsodott komponensek mennyisége osztódással már nem tud csökkenni (Rabinowitz és White, 2010; Mizushima és Komatsu, 2011; Menzies és mtsai., 2017). Az aggregációra hajlamos fehérjéket az autofágia sokkal nagyobb hatékonysággal képes lebontani, mint a proteaszóma. A rossz konformációjú mutáns fehérjék aggregálódásával képződő struktúrák megjelenése közös jellemzője számos neurodegeneratív betegségnek, így az Alzheimer- és Parkinson-kórnak, az amiotrófiás laterális szklerózisnak (ALS), a prion- és poliglutanin betegségeknek, az utóbbiak közé tartozik a spinocerebelláris ataxia több formája és a Huntington-kór (HD) (Ravikumar és mtsai., 2002; Sarkar és mtsai., 2009; Menzies és mtsai., 2011; Sweeney és mtsai., 2017). Az autofágia szelektíven képes a HD kialakulásáért felelős mutáns HTT fehérje lebontására, és ez a képesség méginkább jelentőssé válik a betegségben időben előre haladva a proteaszomális lebontás progresszív károsodása miatt (Ravikumar és mtsai., 2002; Bennett és mtsai., 2005; Bennett és mtsai., 2007; Sarkar és Rubinsztein, 2008). Ezzel összhangban az autofágia genetikai vagy farmakológiai fokozása jótékony hatású számos HD (és más neurodegeneratív betegség) modellben. Ennek az is oka, hogy az autofágia is sérül a HD-ban (Nixon, 2013; Martin és mtsai., 2015; Martinez-Vicente, 2015; Menzies és mtsai., 2017). Az eddig vizsgált autofágia aktiváló/fokozó ágensek olyan autofágia szabályo-

zokat céloznak meg, amelyek a sejt számos más folyamatára hatással vannak (Sarkar és mtsai., 2009; Martinez-Vicente 2015).

Egy kismolekula könyvtár szűrésével kerestünk MTMR14 inhibitorokat, hogy közvetlenül fokozhassuk az autofágiát (az MTMR14 myotubularin foszfatáz az autofágia egyik gátló fehérjeje). A kandidáns molekulák közül kettőről, az AUTEN-67-ről és az AUTEN-99-ről megállapítottuk, hogy fokozzák az autofág aktivitást HeLa sejtekben, izolált neuronokban, valamint *Drosophila*-ban és gerinces modellélőlényekben egyaránt (Papp és mtsai., 2016; Kovács és mtsai., 2017). *Drosophila* eredményeink szerint feltehetően mindkét AUTEN molekula az MTMR14 *Drosophila* ortológján, az EDTP-n keresztül fokozza az autofágiát, *EDTP* mutáns állatokban ugyanis e kismolekulák nem voltak hatással az autofág folyamatra (Papp és mtsai., 2016; Kovács és mtsai., 2017). Doktori munkám során megállapítottuk, hogy a táplálékhoz hozzáadva mindkét kismolekula képes fokozni az autofágiát a felnőtt muslicák agyában. Ezen AUTEN-ek csökkentik autofág receptor Ref(2)P/p62 mennyiségét és az ubikvitinált fehérjék szintjét a patogén 128Q-HTT-t kifejező állatokban, amely arra enged következtetni, hogy a HD modellállatokban is képesek autofágiát fokozni. A 128Q-HTT citoplazmatikus fehérjeaggregátumokat képez az agy bizonyos neuronjaiban, szemben más korábbi megfigyelésekkel, miszerint ezen teljes hosszúságú mutáns HTT fehérje nem képez aggregátumokat, sem a lárvális motoneuronokban, sem a 20 napos felnőttek hasdúcáncsi interneuronjaiban (Romero és mtsai., 2008). A Ref(2)P/p62 szintén nagyméretű citoplazmatikus zárványokban található meg a 128Q-HTT-t kifejező állatok agyában, ráadásul körbeveszi a mutáns HTT-t hasonlóan ahhoz, amit a HeLa sejt HD modellben leírtak (Björkøy és mtsai., 2005). Ráadásul az oldhatatlan p62 és ubikvitinált fehérjék jelentős része kolokalizál, így feltehetően ubikvitintartalmúak is a mutáns HTT alkotta citoplazmatikus zárványok, mások megfigyeléseivel hasonlóan (Björkøy és mtsai., 2005; Iwata és mtsai., 2005; Heng és mtsai., 2010). Az AUTEN-67 csökkentette az aggregátumok mennyiségét (az AUTEN-99 hatását nem vizsgáltuk), valamint mindkét kismolekula csökkentette a toxikus oldott mutáns 128Q-HTT mennyiségét. Ez összhangban van azon korábbi megfigyelésekkel, miszerint a mutáns HTT szubsztrátja a szelektív autofágiának, így a fokozott autofág aktivitás a mutáns HTT szint csökkentése révén neuroprotektív hatású (Ravikumar és mtsai., 2002; Sarkar és Rubinsztejn, 2008; Sarkar és mtsai., 2009). A nem patogén 16Q-HTT-t kifejező kontroll állatok élethosszát képes nyújtani mind az AUTEN-67, mind az AUTEN-99. Ez egybeesik azzal a megfigyeléssel, miszerint mindkét kismolekula képes a *HTT* transzgént nem expresszáló w^{118} állatok élettartamát megnövelni (Papp és mtsai., 2016; Kovács és mtsai., 2017). Mindezek összhangban vannak az au-

tofágia élethossz meghatározásában betöltött szerepével: az autofág aktivitás (bizonyos mértékű) fokozása élethossz nyújtó hatású (Vellai, 2009; Rubinsztein és mtsai., 2011; Pyo és mtsai., 2013). Az AUTEN-67 ráadásul a 128Q-HTT-t kifejező HD modellállatok élettartamát is képes megnövelni. Emellett az AUTEN-67, és kisebb mértékben az AUTEN-99, képes javítani a 128Q-HTT következtében csökkent motoros funkciókat is. Az, hogy egy gyógyszerjelölt molekula a motoros funkciókra és az élettartamra is pozitív hatást gyakorol HD modellben, igen ritka kísérletes megfigyelés. Az AMPK-aktiváló metforminról írtak le kismértékű ilyen hatásokat (Ma és mtsai., 2007), illetve egy szerves diszulfidról, a transzglutamináz gátló cisztaminról olyan HD modellegerekben, amelyekben nem csak a központi idegrendszerben képződnek aggregátumok (Dedeoglu és mtsai., 2002). Azonban ha a mutáns HTT kifejeződését a saját promótere vezérli, akkor a cisztamin nincs pozitív hatással a motoros funkciókra, ahogyan nincs hatása *Drosophila* modellben sem (Agrawal és mtsai., 2005; Van Raamsdonk és mtsai., 2005).

Az AUTEN-67 és AUTEN-99 kismolekulák képesek fokozni az autofág aktivitást *Drosophila* HD modellben, és csökkenteni a mutáns HTT mennyiségét, és annak toxicitását, feltehetően ezáltal javítva a motoros funkciókat, és - az AUTEN-67 esetében - növelve az állatok élettartamát. A két gyógyszerjelölt további farmakológiai vizsgálata tehát mindenképpen indokolt. Reményeink szerint mind sejtes, mind egér HD modelleken mielőbb tovább vizsgálhatóak lesz az AUTEN-67 és AUTEN-99 hatásai. Pozitív eredmények esetében a jövőben kombinálni is lehetne az AUTEN-eket más gyógyszerjelölt molekulákkal, amely a lehetséges mellékhatásokat is csökkenthetné. Remélhetőleg akár ezen megközelítésekkel, akár más módon, a Huntington-kór mielőbb gyógyítható lesz.

A doktori értekezés alapjául szolgáló közlemények

Billes V, Kovács T, Hotzi B, Manzéger A, Tagscherer K, Komlós M, Tarnóci A, Pádár Z, Erdős A, Bjelik A, Légrádi A, Gulya K, Gulyás B, Vellai T. 2016. AUTEN-67 (Autophagy Enhancer-67) Hampers the Progression of Neurodegenerative Symptoms in a *Drosophila* model of Huntington's Disease. *Journal of Huntington's disease* **5**: 133-147.

IF: 1,58; független hivatkozások száma: 1

Kovács T, **Billes V**, Komlós M, Hotzi B, Manzéger A, Tarnóci A, Papp D, Szikszai F, Szinyákovics J, Rácz A, Noszál B, Veszélka S, Walter FR, Deli MA, Hackler L Jr., Alföldi R, Huzian O, Puskás LG, Liliom H, Tárnok K, Schlett K, Borsy A, Welker E, Kovács AL, Pádár Z, Erdős A, Légrádi A, Bjelik A, Gulya K, Gulyás B, Vellai T.

2017. The small molecule AUTEN-99 (autophagy enhancer-99) prevents the progression of neurodegenerative symptoms. *Scientific Reports* **7**: 42014.
IF: 4,259; független hivatkozások száma: 1

Szerző további közleményei

- Papp D, Kovács T, **Billes V**, Varga M, Tarnóci A, Hackler L, Jr., Puskás LG, Liliom H, Tárnok K, Schlett K, Borsy A, Pádár Z, Kovács AL, Hegedűs K, Juhász G, Komlós M, Erdős A, Gulyás B, Vellai T. 2016. AUTEN-67, an autophagy-enhancing drug candidate with potent antiaging és neuroprotective effects. *Autophagy* **12**: 273-286.
IF: 8,593; független hivatkozások száma: 7
- Klionsky DJ, Abdelmohsen K, Abe A, Abedin MJ, Abeliovich H, Acevedo, Arozena A, Adachi H, Adams CM, Adams PD, Adeli K, ... **Billes V**, ... és mtsai. 2016. Guidelines for the use és interpretation of assays for monitoring autophagy (3rd edition). *Autophagy* **12**: 1-222.
IF: 8,593; független hivatkozások száma: 184

Felhasznált irodalom

- Agrawal N, Pallos J, Slepko N, Apostol BL, Bodai L, Chang LW, Chiang AS, Thompson LM, Marsh JL. 2005. Identification of combinatorial drug regimens for treatment of Huntington's disease using *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**: 3777-3781.
- Alonso A, Sasin J, Bottini N, Friedberg I, Friedberg I, Osterman A, Godzik A, Hunter T, Dixon J, Mustelin T. 2004. Protein tyrosine phosphatases in the human genome. *Cell* **117**: 699-711.
- Anding AL, Baehrecke EH. 2017. Cleaning House: Selective Autophagy of Organelles. *Dev Cell* **41**: 10-22.
- Bennett EJ, Bence NF, Jayakumar R, Kopito RR. 2005. Global impairment of the ubiquitin-proteasome system by nuclear or cytoplasmic protein aggregates precedes inclusion body formation. *Molecular cell* **17**: 351-365.
- Bennett EJ, Shaler TA, Woodman B, Ryu KY, Zaitseva TS, Becker CH, Bates GP, Schulman H, Kopito RR. 2007. Global changes to the ubiquitin system in Huntington's disease. *Nature* **448**: 704-708.
- Björkøy G, Lamark T, Brech A, Outzen H, Perander M, Overvatn A, Stenmark H, Johansen T. 2005. p62/SQSTM1 forms protein aggregates degraded by autophagy and has a protective effect on huntingtin-induced cell death. *The Journal of cell biology* **171**: 603-614.
- Dedeoglu A, Kubilus JK, Jeitner TM, Matson SA, Bogdanov M, Kowall NW, Matson WR, Cooper AJ, Ratan RR, Beal MF és mtsai. 2002. Therapeutic effects of cystamine in a murine model of Huntington's disease. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience* **22**: 8942-8950.
- Duffy JB. 2002. GAL4 system in *Drosophila*: a fly geneticist's Swiss army knife. *Genesis* **34**: 1-15.

- Feng Y, He D, Yao Z, Klionsky DJ. 2014. The machinery of macroautophagy. *Cell research* **24**: 24-41.
- Hardie DG. 2014. AMPK - sensing energy while talking to other signaling pathways. *Cell Metab* **20**: 939-952.
- Heng MY, Duong DK, Albin RL, Tallaksen-Greene SJ, Hunter JM, Lesort MJ, Osmand A, Paulson HL, Detloff PJ. 2010. Early autophagic response in a novel knock-in model of Huntington disease. *Human molecular genetics* **19**: 3702-3720.
- Hnia K, Vaccari I, Bolino A, Laporte J. 2012. Myotubularin phosphoinositide phosphatases: cellular functions and disease pathophysiology. *Trends in molecular medicine* **18**: 317-327.
- Iwata A, Christianson JC, Bucci M, Ellerby LM, Nukina N, Forno LS, Kopito RR. 2005. Increased susceptibility of cytoplasmic over nuclear polyglutamine aggregates to autophagic degradation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **102**: 13135-13140.
- Johansen T, Lamark T. 2011. Selective autophagy mediated by autophagic adapter proteins. *Autophagy* **7**: 279-296.
- Kovács T, Billes V, Komlós M, Hotzi B, Manzéger A, Tarnóci A, Papp D, Szikszai F, Szinyákovics J, Rácz A és mtsai. 2017. The small molecule AUTEN-99 (autophagy enhancer-99) prevents the progression of neurodegenerative symptoms. *Scientific reports* **7**: 42014.
- Laplante M, Sabatini DM. 2009. mTOR signaling at a glance. *J Cell Sci* **122**: 3589-3594.
- Ma TC, Buescher JL, Oatis B, Funk JA, Nash AJ, Carrier RL, Hoyt KR. 2007. Metformin therapy in a transgenic mouse model of Huntington's disease. *Neuroscience letters* **411**: 98-103.
- Martin DD, Ladha S, Ehrnhoefer DE, Hayden MR. 2015. Autophagy in Huntington disease and huntingtin in autophagy. *Trends in neurosciences* **38**: 26-35.
- Martinez-Vicente M. 2015. Autophagy in neurodegenerative diseases: From pathogenic dysfunction to therapeutic modulation. *Seminars in cell & developmental biology* **40**: 115-126.
- Meijer WH, van der Klei IJ, Veenhuis M, Kiel JA. 2007. ATG genes involved in non-selective autophagy are conserved from yeast to man, but the selective Cvt and pexophagy pathways also require organism-specific genes. *Autophagy* **3**: 106-116.
- Menzies FM, Fleming A, Caricasole A, Bento CF, Andrews SP, Ashkenazi A, Fullgrabe J, Jackson A, Jimenez Sanchez M, Karabiyik C és mtsai. 2017. Autophagy and Neurodegeneration: Pathogenic Mechanisms and Therapeutic Opportunities. *Neuron* **93**: 1015-1034.
- Menzies FM, Moreau K, Rubinsztein DC. 2011. Protein misfolding disorders and macroautophagy. *Current opinion in cell biology* **23**: 190-197.
- Mizushima N, Komatsu M. 2011. Autophagy: renovation of cells and tissues. *Cell* **147**: 728-741.
- Mizushima N, Levine B, Cuervo AM, Klionsky DJ. 2008. Autophagy fights disease through cellular self-digestion. *Nature* **451**: 1069-1075.
- Mulakkal NC, Nagy P, Takats S, Tusco R, Juhasz G, Nezis IP. 2014. Autophagy in Drosophila: From Historical Studies to Current Knowledge. *BioMed research international* **2014**: 273473.
- Nagy P, Varga A, Kovács AL, Takáts S, Juhász G. 2014. How and why to study autophagy in Drosophila: It's more than just a garbage chute. *Methods (San Diego, Calif)*.
- Nixon RA. 2013. The role of autophagy in neurodegenerative disease. *Nature medicine* **19**: 983-997.

- Papp D, Kovács T, Billes V, Varga M, Tarnóci A, Hackler L, Jr., Puskás LG, Liliom H, Tárnok K, Schlett K és mtsai. 2016. AUTEN-67, an autophagy-enhancing drug candidate with potent antiaging and neuroprotective effects. *Autophagy* **12**: 273-286.
- Pyo JO, Yoo SM, Ahn HH, Nah J, Hong SH, Kam TI, Jung S, Jung YK. 2013. Overexpression of Atg5 in mice activates autophagy and extends lifespan. *Nature communications* **4**: 2300.
- Rabinowitz JD, White E. 2010. Autophagy and metabolism. *Science* **330**: 1344-1348.
- Ravikumar B, Duden R, Rubinsztein DC. 2002. Aggregate-prone proteins with polyglutamine and polyalanine expansions are degraded by autophagy. *Human molecular genetics* **11**: 1107-1117.
- Robinson FL, Dixon JE. 2006. Myotubularin phosphatases: policing 3-phosphoinositides. *Trends in cell biology* **16**: 403-412.
- Romero E, Cha GH, Verstreken P, Ly CV, Hughes RE, Bellen HJ, Botas J. 2008. Suppression of neurodegeneration and increased neurotransmission caused by expanded full-length huntingtin accumulating in the cytoplasm. *Neuron* **57**: 27-40.
- Rubinsztein DC, Marino G, Kroemer G. 2011. Autophagy and aging. *Cell* **146**: 682-695.
- Rüb U, Seidel K, Heinsen H, Vonsattel JP, den Dunnen WF, Korf HW. 2016. Huntington's disease (HD): the neuropathology of a multisystem neurodegenerative disorder of the human brain. *Brain pathology (Zurich, Switzerland)* **26**: 726-740.
- Sarkar S, Ravikumar B, Floto RA, Rubinsztein DC. 2009. Rapamycin and mTOR-independent autophagy inducers ameliorate toxicity of polyglutamine-expanded huntingtin and related proteinopathies. *Cell death and differentiation* **16**: 46-56.
- Sarkar S, Rubinsztein DC. 2008. Huntington's disease: degradation of mutant huntingtin by autophagy. *The FEBS journal* **275**: 4263-4270.
- Saudou F, Humbert S. 2016. The Biology of Huntingtin. *Neuron* **89**: 910-926.
- Shvets E, Fass E, Scherz-Shouval R, Elazar Z. 2008. The N-terminus and Phe52 residue of LC3 recruit p62/SQSTM1 into autophagosomes. *J Cell Sci* **121**: 2685-2695.
- Sweeney P, Park H, Baumann M, Dunlop J, Frydman J, Kopito R, McCampbell A, Leblanc G, Venkateswaran A, Nurmi A és mtsai. 2017. Protein misfolding in neurodegenerative diseases: implications and strategies. *Translational neurodegeneration* **6**: 6.
- Towers CG, Thorburn A. 2016. Therapeutic Targeting of Autophagy. *EBioMedicine* **14**: 15-23.
- Van Raamsdonk JM, Pearson J, Bailey CD, Rogers DA, Johnson GV, Hayden MR, Leavitt BR. 2005. Cystamine treatment is neuroprotective in the YAC128 mouse model of Huntington disease. *Journal of neurochemistry* **95**: 210-220.
- Vellai T. 2009. Autophagy genes and ageing. *Cell death and differentiation* **16**: 94-102.
- Venken KJ, Bellen HJ. 2014. Chemical mutagens, transposons, and transgenes to interrogate gene function in *Drosophila melanogaster*. *Methods (San Diego, Calif)*.
- Vergne I, Roberts E, Elmaoued RA, Tosch V, Delgado MA, Proikas-Cezanne T, Laporte J, Deretic V. 2009. Control of autophagy initiation by phosphoinositide 3-phosphatase Jumpy. *The EMBO journal* **28**: 2244-2258.
- Williams A, Sarkar S, Cuddon P, Ttöfi EK, Saiki S, Siddiqi FH, Jahreiss L, Fleming A, Pask D, Goldsmith P és mtsai. 2008. Novel targets for Huntington's disease in an mTOR-independent autophagy pathway. *Nature chemical biology* **4**: 295-305.
- Xu Z, Tito A, Rui YN, Zhang S, 2015. Studying Polyglutamine Diseases in *Drosophila*. *Exp Neurol*.